第 37 卷第 12 期 2017 年 6 月 生 态 学 报 ACTA ECOLOGICA SINICA Vol.37,No.12 Jun.,2017

DOI: 10.5846/stxb201602230314

陆茜,张金池,孟苗婧.长期连栽杨树林根际土壤自毒作用的生物测定.生态学报,2017,37(12):4053-4060.

Lu Q, Zhang J C, Meng M J.Bioassay for inhibitory autotoxicity of rhizosphere soil under long-term successive monoculture poplar plantations.Acta Ecologica Sinica,2017,37(12):4053-4060.

长期连栽杨树林根际土壤自毒作用的生物测定

陆 茜,张金池*,孟苗婧

南京林业大学南方现代林业协同创新中心,江苏省水土保持与生态修复重点实验室, 南京 210037

摘要:选取 10—40a 不同代际的长期集约连栽杨树土壤为对象,从自毒作用的角度探讨人工林连栽障碍的原因与机理。实施了不同连栽代际的杨树人工林土壤对莴苣种子发芽和扦插杨树枝条生长的抑制活性的系统生物测定试验。结果表明,连栽杨树林的根际土壤比非根际土壤能够显著抑制莴苣种子萌发率。对Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ代林根际土壤的浓度梯度试验都表明浸提液的质量浓度越大,对种子萌发的抑制性越强,其中Ⅲ代林处理液的浓度效应最明显。将Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ代杨树林根际土壤配置成加营养液组与无营养液组两组对照水培溶液测定扦插杨树枝条的胚芽生长长度和根伸长长度。结果表明,Ⅲ代林根际土壤处理液的胚芽生长长度和根伸长长度显著小于Ⅱ代林根际土壤处理液,Ⅱ代林处理又显著小于Ⅰ代林处理,Ⅰ代林处理液与对照组无显著差别,这种随林代增大、根际土壤对植株生长的抑制活性增大的趋势在加营养液组更为显著。本文确定了连栽土壤抑制活性的根际效应与浓度效应,为连栽杨树人工林的自毒作用研究提供了重要的实验依据,并推断连栽杨树人工林通过根系分泌物的方式在根际部分逐代积累自毒物质,由于自毒物质的浓度效应,Ⅰ代林阶段自毒效应不显著甚至促进林木生长;随着集约时间增长,到Ⅲ代林阶段自毒效应显著抑制杨树生长和更新。在集约抚育中,对土壤实施人工添加营养液的方式无法缓解其抑制性自毒作用,有可能加剧连栽障碍的产生。

关键词:化感作用;连栽障碍;扦插;莴苣;单一种植;种子萌发

Bioassay for inhibitory autotoxicity of rhizosphere soil under long-term successive monoculture poplar plantations

LU Qian, ZHANG Jinchi*, MENG Miaojing

Co-Innovation Centre for Sustainable Forestry in Southern China, Jiangsu Provincial Key Laboratory of Soil & Water Conservation and Ecological Restoration, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, *China*

Abstract: *Populus* is one of the most important tree species in the economic plantations in China. However, poplar plantations are vulnerable to the continuous monoculture problems. Previous studies have focused on low availability of soil nutrients and poor management as the possible causes for such decline. With the progress of chemical ecology, allelopathy and autotoxicity in forest plantations have been increasingly regarded as key triggers of the problems associated with continuous monoculture. To the best of our knowledge, few studies on poplar autotoxicity have been based on long-term samples, even though poplar monoculture is common in planting practice. Moreover, experiments to compare the effects of low availability of soil nutrients and autotoxicity have not been attempted. In this study, we selected soil samples from three generations of poplar plantations, which included monoculture plantation as old as 40 years, and carried out systemic germination bioassays of *lactuca sativa*seeds and seedling growth tests on branch cuttings of poplar trees grown on soils in which successive generations of the plant had been grown. We identified the inhibitory activity of rhizosphere soil and the effects of concentration dependence and independence on nutrient inhibitory activity, which provided basic experimental

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31470709);国家林业公益行业专项资助项目(201504406);江苏省优势学科资助项目(PAPD)

收稿日期:2016-02-23; **修订日期**:2017-01-04

*通讯作者 Corresponding author.E-mail: nfujczhang@ sina.com

evidence for further study on autotoxicity in continuously cropped poplar plantations. In a laboratory experiment, we contrasted the inhibitory activities of rhizosphere soil and non-rhizosphere soil on continuously cropped poplar plantations by determining lettuce seed germination in the soil extracts. The results showed that rhizosphere soil significantly inhibited lettuce seed germination compared to the non-rhizosphere soil. Concentration-controlled assays of rhizosphere soil extracts of generations I, II, and III (GenI, GenII, and GenIII) poplar plantations were used to investigate the inhibitory dose attribution effect. The results showed that greater the soil extract concentration, stronger was the inhibitory effect on seed germination, suggesting that soil extracts inhibited seed germination in a concentration-dependent manner. The results also showed that concentration dependence was strongest in GenIII poplar plantations. The rhizosphere soil extracts of GenI, GenII, and GenIII poplar plantations were divided into two groups (an added-nutrition group and a non-nutrition group) of culture solutions, which determined the length of shoot and root in the poplar branch cuttings. The results showed that the length of shoot and root in the GenIII treatments were significantly lower than in the GenII treatments, whereas those in the GenII treatments were significantly lower than in the GenI treatments. There were no significant differences between the GenI treatments and the control group. This tendency toward inhibitory activity on plant growth increased with time (with the successive poplar generations) and was more prominent in the added-nutrition group. Our results, therefore, suggest that autotoxins accumulated through root exudates in the rhizosphere soil of continuously monocultured poplar plantations. As a result of concentration dependence, autotoxins did not significantly inhibit the plant growth at GenI stage. With increasing years of monoculture, the autotoxic effects significantly inhibited the plant growth by GenIII stage and were especially significant in the soils that received artificial nutrition. Therefore, long-term monoculture practice and inhibitory autotoxicity of rhizosphere soil are likely to cause the continuous planting problems seen in poplar plantations.

Key Words: allelopathy; continuous planting obstacle; cutting branch; *Lactuca sativa*; long-term monoculture; seed germination

化感作用(Allelopathy)是近年来化学生态学领域的研究热点之一,它主要指植物(或微生物)之间相互抑制或促进的生物化学作用[1],供体产生化感物质后通过淋溶、挥发、根系分泌或残体分解等途径释放到环境中,从而影响到受体植物的生长和发育。供体植物(或微生物)与受体植物(或微生物)属于同一物种时,就称为自毒作用[2]。其中抑制性的化感-自毒作用更为普遍,受到研究者重视,成为近年来植物化感研究的一种趋势[3-4]。

杨树(*Populus*)是中国重要的人工林栽培树种之一,2015 年杨树栽培面积已超 0.067 亿 hm^2,居世界首位。杨树在集约栽培中会出现土壤病或树病,其中连栽障碍的问题较为常见[5]。所谓"连栽障碍",是指植物在单一连栽/作的条件下,随着栽培时间增长而地力逐代衰退、植物质量随之下降的现象。对于植物连栽障碍的研究,早期大多从土壤养分匮乏和人工抚育的角度对其发生机制进行阐释[6-7];近期的研究指出:连栽障碍的发生与植物在连栽过程中积累一定质量浓度的自毒物质从而产生抑制性的自毒作用有关[8-9],自毒作用很可能是连栽障碍的关键诱因。学界对杨树化感/自毒作用的研究已有涉足,如探讨杨树不同器官的浸提液或分解物对作物生长的影响[10-12]、研究外源自毒物质对杨树的抑制效应与修复[13-15]、比较不同抚育方式或不同品种的杨树自毒效应[16-17]等,但目前尚缺乏基于长期数据的杨树化感生物测定的报道,各研究样本的时长最多不超过 10a。而在抚育实践中,长期集约连栽人工林是普遍存在的,长期连栽年限与自毒作用的关系值得探讨。本研究以单一连栽时间达 40a 的长期集约种植杨树人工林作为研究对象,并选取Ⅰ代林(连栽 10a)、Ⅱ代林(连栽 30a)、Ⅲ代林(连栽 40a)3 个连续时间的人工林土壤为样本形成对照,以揭示人工林连栽及土地利用的临界年限。

确认植物是否存在化感-自毒作用,用模式植物对研究对象进行生物测定(bioassay)是最常用的方法。目前对连栽作物的化感生物测定较为充分[18-20],而连栽人工林受树木生长周期和野外条件的影响,取样比较困

难,通常采用模拟试验进行生物测定[13,21],只有少数报道以直接取样于连栽样地的样本配置成母液进行生物测定[22]。本研究采取野外采样的方式,选取Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ代连栽杨树林土壤为样本,对杨树的根部进行生物测定。根际是植物与环境进行物质与能量交换的活跃区域,研究显示多年生植物的根际土与非根际土土壤微生物群落存在差异[23],这可能是根系区域发生化感作用的证据。本文通过对不同代际杨树林土壤的生物测定和营养液对照实验,旨在探察长期集约连栽是否有可能导致杨树林在土壤中逐步积累具备显著自毒效应的毒性物质、以及推断杨树发生自毒作用的途径,以期为从化学生态学的角度解决杨树人工林连栽障碍和土地利用时限问题提供依据。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　实验区概况

黄淮海平原是中国杨树人工林的主要栽培区之一。本研究选择江苏省徐州市西北部的丰县大沙河林场(34°79′ N, 116°57′ E)作为实验区,区内林地的抚育管理措施具有一致性。样区3个林代的基本信息如表1所示:生物量逐代下降,显示出连栽障碍的特点。其中Ⅰ代林的土壤栽植年限约为10a,Ⅱ代林约为30a,Ⅲ代林约为40a。杨树品种均为意大利引进欧美杨无性系72杨 *P. euramericana* 'San Martino',其特点为生长期较长、林积生长较快。

表1　林分基本特征

Table 1　Characteristics of the selected trees

处理 Treatment	树龄/a Tree age	树高/m Tree height	胸径/cm DBH	单株生物量/(kg/株) Individual biomass	林分生物量/(t/hm^2) Stand biomass
Ⅰ代林	10	14.7	20.09	417.52	122.32
Ⅱ代林	10	13.0	18.47	383.16	115.76
Ⅲ代林	10	12.3	18.11	361.89	104.13

1.1.2　采样方法

2013年5月, 在大沙河林场选取Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ代杨树林样地,土壤质地均为砂土。每代试验样地随机选取10株杨树。采样木树高12—14m、胸径18—20cm、树龄约10a。每株杨树分别采集一袋(170mm×240mm自封袋)根际土壤和一袋非根际土壤。根际土壤采用抖落法采集直径<0.5cm的杨树细根上附着的土壤(1—2mm),连同细根一起放入袋内。非根际土壤为根区域内非附着于根际的土壤。在选取的10株杨树中任选其中5株,在距离树干约90cm无根系处随机选取两点,用内径6cm的取土环刀采集土壤样品,每个林代10个样品用于测定土壤理化性质。回实验室后取出根际土壤中的细根切碎,剩余根际土壤过0.25mm筛去除杂物,切碎后的细根仍旧放进过筛后的土壤样品中,混匀风干备用。非根际土壤直接过0.25mm筛风干备用。对土壤化学性质的测定每个指标设立3次重复。

1.1.3　供试植物

种子萌发试验选取敏感植物莴苣(*Lactuca sativa*)为供试受体,与相关报道一致[24-25]。选取颗粒饱满、大小一致、无发霉无破损的莴苣种子,乙醇消毒后超纯水冲洗干净备用。植株生长试验所用的扦插杨树条采自与土壤样本同一地点的植株,截取长度20cm、直径约为2cm的杨树条做为供试受体,超纯水清洗干净备用。

1.2　方法

1.2.1　土壤理化性质

土壤化学性质测定的具体操作参考文献进行[26]:采用便携式pH计测定土壤pH值;采用半微量凯氏定氮法测定全氮含量;采用碱解扩散法测定速效氮含量;采用硫酸-高氯酸消煮法测定全磷含量;采用碳酸氢钠浸提钼锑抗比色法测定速效磷含量。

土壤物理性质的计算方式如下：

土壤容重(g/cm^3)= 环刀内干土重/环刀体积

最大持水量(%)=(浸水 12h 环刀内湿土重-环刀内干土重)/环刀内干土重×100

总孔隙度(容积%)= 毛管孔隙度(容积%)+非毛管孔隙度(容积%)

其中， 毛管孔隙度(容积%)= 毛管持水量(%)×土壤容重

非毛管孔隙度(容积%)=(最大持水量(%)-毛管持水量(%))×土壤容重

不同代际杨树林土壤理化性质分析结果见表 2 。

表 2 杨树人工林土壤物理性质

Table 2 Soil physical properties of poplar plantations

处理 Treatment	容重 Bulk density/ (g/cm^3)	最大持水量 Maximum moisture capacity/%	总孔隙度 Total porosity/%	pH	全氮 Total N/ (g/kg)	全磷 Total P/ (g/kg)	速效氮 Available N/ (mg/kg)	速效磷 Available P/ (mg/kg)
Ⅰ代林	1.46±0.4	32.54±4.2	49.42±6.2	7.70±0.04a	5.97±1.01a	1.26±0.05	71.95±2.11a	11.44±0.29a
Ⅱ代林	1.49±0.2	32.36±3.9	47.20±7.5	7.72±0.05a	5.21±0.51b	1.14±0.05	60.34±1.18b	8.42±0.21a
Ⅲ代林	1.49±0.4	32.34±4.6	46.91±7.1	7.57±0.07b	5.77±0.26a	1.04±0.04	50.20±1.58c	6.64±0.22b

小写字母不同表示 5%显著差异

1.2.2 种子萌发生物测定试验方法

将 50 粒莴苣种子置于铺有两层滤纸、直径为 12cm 的培养皿中。光周期 20℃，16 h；暗周期 15℃，8 h。种子萌发以破皮发芽为标准。3d 后统计种子发芽数。

(1)根际土壤浸提液与非根际土壤浸提液抑制活性初步筛选：将Ⅰ代林、Ⅱ代林和Ⅲ代林根际土壤浸提液和非根际土壤浸提液分别加入培养皿，质量浓度均为 1g/mL，对照为 3 mL 纯水，共 7 个处理，每个处理设 3 次重复。

种子萌发率(%)=(第 3 天发芽种子数/50)×100%

(2)根际土壤的抑制种子萌发浓度梯度试验：为进一步确定连栽杨树人工林根际土壤浸提液抑制种子萌发的浓度依赖性以及最低抑制浓度，将Ⅰ代林、Ⅱ代林和Ⅲ代林的根际土壤母液稀释后分别配置成 0.1、0.2、0.5、0.8、1 g/mL 的培养溶液，加入培养皿，每个培养皿摆放莴苣种子 50 粒，共 15 个处理，每个处理 3 次重复。

种子萌发抑制率(%)=(第 3 天对照发芽种子数-第 3 天处理发芽种子数)/
第 3 天对照发芽种子数×100%

当抑制率>0，表示浸提液对种子萌发具有抑制作用；当抑制率<0，表示浸提液对种子萌发具有促进作用。

1.2.3 扦插杨树水培试验方法

购置塑料小桶若干，桶口放置白色塑料泡沫，将杨树扦插条从泡沫插入深入到桶内，每个桶插入 5 根枝条，整齐排列，用泡沫固定好位置。

(1)不同代际杨树林根际土壤浸提液对水培扦插杨树生长发育的影响：将质量浓度均为 1g/mL 的Ⅰ代林、Ⅱ代林和Ⅲ代林根际土壤浸提液加入各小桶作为第 1 处理组，对照为纯水；另将质量浓度均为 1g/mLⅠ代林、Ⅱ代林和Ⅲ代林根际土壤浸提液与霍格兰德营养液一起加入各小桶作为第 2 处理组，对照为纯水+营养液。两组共 8 个处理，每个处理重复 5 次。

(2)不同质量浓度的根际土壤浸提液对水培扦插杨树生长发育的影响：将Ⅲ代林的根际土壤母液稀释后分别配置成 0.1、0.2、0.5、0.8、1 g/mL 的培养溶液，加入小桶，对照为 1L 纯水。共 6 个处理，每个处理 5 次重复。

生长抑制率(%)=(第 30 天对照生长长度-第 30 天处理生长长度)/第 30 天对照生长长度×100%

当抑制率>0，表示浸提液对扦插枝条生长具有抑制作用；当抑制率<0，表示浸提液对扦插枝条生长具有

促进作用。

光周期 20℃,16 h;暗周期 15℃,8 h。每 3d 换新溶液 1 次,30d 后剪下胚芽和根,进行长度测量。

1.3 数据分析

统计采用单因素方差分析(ANOVA)和最小显著极差法(LSD)检验,主要用 Excel 2007 和 SPSS 19.0 完成。

2 结果

2.1 莴苣种子萌发的生物测定试验

2.1.1 根际土壤与非根际土壤的化感活性对照试验

根际土壤浸提液对莴苣种子的萌发具有显著的抑制作用,而非根际土壤浸提液对莴苣种子的萌发抑制不显著(图 1)。其中,与纯水对照组 84.5% 的萌发率相比,无论是Ⅰ代林、Ⅱ代林还是Ⅲ代林,根际土壤组的莴苣种子萌发率均显著减少,萌发率最高不超过 60%,尤其是Ⅲ代林的萌发率仅为 48.7%,达到极显著抑制的水平(P<0.01);而非根际土壤组只有Ⅲ代林的土壤浸提液显著抑制了莴苣种子的萌发(P<0.05),其萌发率为 72.7%,而Ⅰ代林与Ⅱ代林土壤浸提液的种子萌发率分别为 83.0% 和 79.7%,与对照组相比无显著性差异(P>0.05)。此外,根际土壤与非根际土壤的处理组内呈现一致的规律:Ⅰ代林与Ⅱ代林对莴苣种子的萌发抑制性无显著差异(P>0.05),而Ⅲ代林的土壤浸提液与前两代林相比,对莴苣种子萌发有显著的抑制性,其中根际土壤组呈现极显著的差异(P<0.01)。由此可见,根际土壤能够明显抑制莴苣种子的萌发,而Ⅲ代林的根际土壤对种子萌发的抑制效应最显著。

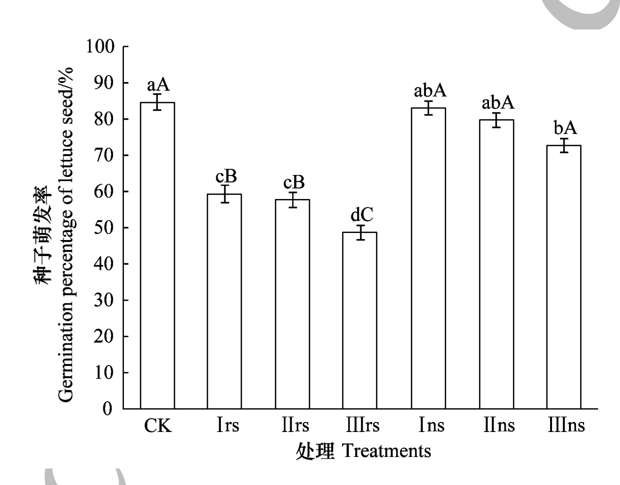


图 1　Ⅰ代林、Ⅱ代林、Ⅲ代林土壤浸提液对莴苣种子的萌发率

Fig.1　Germination rate of lettuce seeds of soil extracts from Generation Ⅰ、Generation Ⅱ and Generation Ⅲ plantations

rs:根际土壤组; ns:非根际土壤组; CK:对照组。柱形图顶部不同小写字母表示 5%显著差异,不同大写字母表示 1%极显著差异

2.1.2 根际土壤的抑制种子萌发浓度梯度试验

结果如图 2 所示:随着根际土壤的浸提液质量浓度的增高,其对莴苣种子的萌发抑制率增大。其中Ⅱ代林和Ⅲ代林在 0.1g/mL 的低浓度时能够促进萌发率增长(萌发率高于对照)。而 3 个林代的抑制趋势略有不同:其中Ⅰ代林随着浓度增大,抑制率增大的幅度最小,Ⅱ代林接近线性趋势,Ⅲ代林随着浓度升高而增大抑制萌发率的幅度最大。0.2—0.5g/mL 的浓度范围内,3 个林代的抑制萌发率最接近。

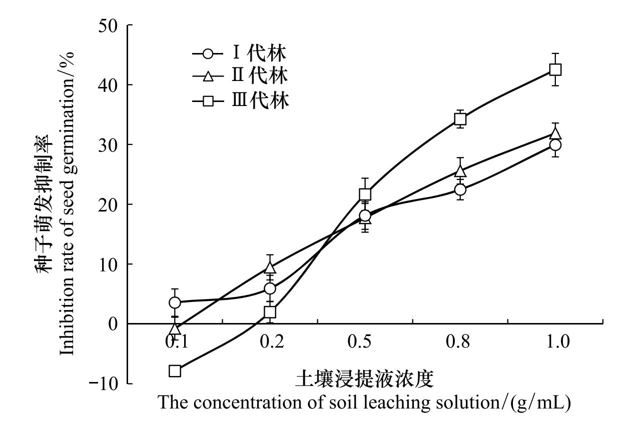


图 2　根际土壤对种子萌发抑制率的浓度梯度试验

Fig.2　Concentration gradient test of rhizosphere soils on seed germination inhibition rate

2.2 根际土壤浸提溶液抑制杨树植株生长试验

2.2.1 不同代际杨树林根际土壤浸提液对水培扦插杨树生长的影响

如实验结果所示:根伸长方面, Ⅰ代、Ⅱ代、Ⅲ代林的土壤浸提液在营养液组与无营养液组的抑制趋势完全一致:Ⅰ代林比对照组根伸长长度略大,但差异不显著;Ⅱ代林比Ⅰ代林根伸长长度显著降低、Ⅲ代林比Ⅱ代林根伸长长度显著降低(图 3);胚芽生长长度方面,两组中Ⅲ代林的胚芽生长长度均比Ⅱ代林显著降低、Ⅰ代林与对照组的胚芽生长长度均无显著差异,Ⅱ代林

与Ⅰ代林在无营养液组的胚芽生长长度没有显著差异,但营养液组中,Ⅱ代林比Ⅰ代林的土壤浸提液显著抑制了胚芽生长长度(图3)。

因此总体而言,无论在营养液组还是无营养液组,杨树的胚芽生长长度和根伸长长度均随着代际增大呈现一致的降低趋势,并且营养液组比无营养液组的抑制程度更显著。

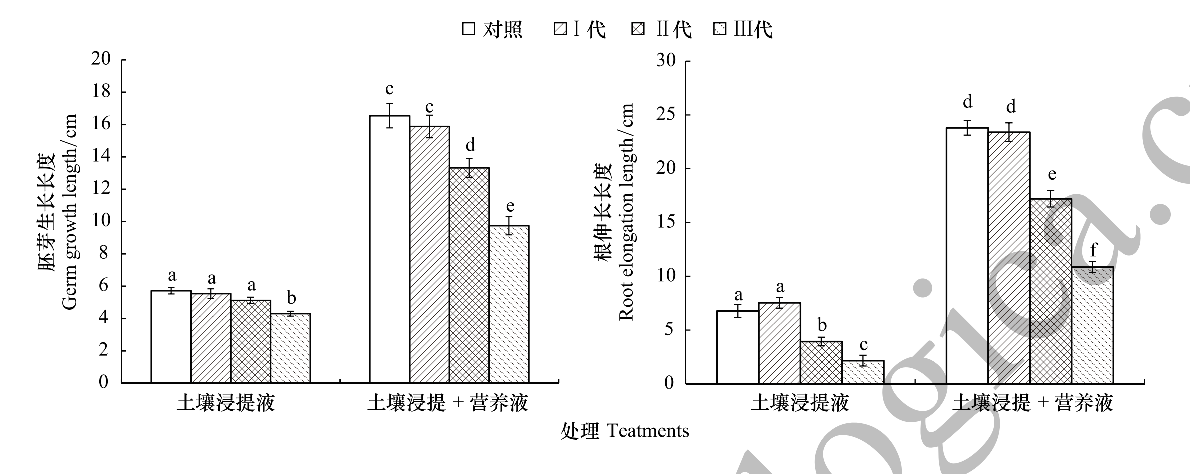


图3 不同代际杨树林根际土壤浸提液对水培扦插杨树生长发育的影响

Fig.3 Effect of rhizosphere soil extracts of poplar from different generations on the growth of poplar cutting branches

柱状图顶部小写字母不同表示5%显著有差异

2.2.2 不同质量浓度的根际土壤浸提液对水培扦插杨树生长的影响

随着Ⅲ代林根际土壤浸提液质量浓度增大,扦插杨树胚芽生长长度和根伸长长度都显著降低,而浸提液对胚芽生长长度和根伸长长度的抑制率随浓度增大而增大(表3)。

胚芽生长长度随土壤浸提溶液浓度的升高而呈现逐渐降低的趋势,抑制率呈现逐渐升高的趋势,其中在最低浓度0.1g/mL时抑制率为负,即与对照相比,土壤浸提液对胚芽生长有促进作用。土壤溶液浓度为0.5g/mL时胚芽生长长度为4.88cm、抑制率为14.7%,与溶液浓度在0.1、0.2g/mL和1g/mL时均存在显著差异,但与0.8g/mL浓度无显著性差异。

与胚芽生长长度类似,根伸长长度随土壤浸提溶液浓度的升高亦呈现逐渐降低的趋势,抑制率呈现逐渐升高的趋势,其中在最低浓度0.1g/mL时抑制率为负,即与对照相比,土壤浸提液对根伸长有促进作用。土壤溶液为0.8g/mL时根伸长长度为4.12cm、抑制率为39.2%,两者与溶液在0.1、0.2g/mL和1g/mL浓度时均存在显著差异,与溶液在0.5g/mL时无显著性差异。

表3 不同浓度根际土壤浸提液对扦插杨树胚芽和根的生长影响

Table 3 Experimental results of different concentrations of rhizosphere soil extract affect the germ and root growths of cutting poplar branches

处理 Treatment	浓度/(g/mL) Concentration	胚芽 Germ		根 Root	
		生长长度/cm Growth length	抑制率/% Inhibition rate	伸长长度/cm Elongation length	抑制率/% Inhibition rate
土壤溶液 Soil extracts	0.1	5.66±0.64d	−0.70%±0.08%d	9.04±1.28d	−33.33%±4.72%b
	0.2	5.38±1.03cd	5.94%±1.14%cd	7.10±1.05cd	−4.72%±0.25%b
	0.5	4.88±0.72bc	14.69%±2.16%bd	5.94±1.14bc	12.39%±2.38%a
	0.8	4.42±1.01a	22.73%±5.19%a	4.12±0.76ab	39.23%±7.24%a
	1	4.32±0.31a	24.83%±1.78%a	2.16±0.40e	68.14%±12.6%e
空白对照 Control		5.72±0.74e		6.82±1.07c	

小写字母不同表示5%显著有差异

3　讨论

化感作用的发生途径主要有挥发、淋溶和根系分泌 3 种,本研究的结果表明杨树人工林的根际土壤相较于非根际土壤,对测试种子的萌发具有更显著的抑制作用,这种“根际效应”与已有的报道结论一致[27-28],该结果也提示连栽杨树林更主要通过根际集聚化感物质而非枯落物淋溶化感物质的路径产生自毒效应;而连栽年限最长的Ⅲ代林无论是根际土壤还是非根际土壤的浸提液都显示出对测试种子的萌发抑制作用,加上在Ⅲ代林阶段,土壤的酸性程度较前两代林显著增大(表 2),很有可能与枯落物的长期淋溶作用相关,因此推测到了连栽后期,杨树根系分泌物与枝叶淋溶均有可能成为化感作用的发生途径。已有报道显示,生长期较长的森林的确可以通过枝叶淋溶的途径逐渐积累自毒物质,如天山云杉在天然更新过程中,针叶通过淋溶作用对更新种子产生自毒作用从而阻碍森林更新[8]。而长期连栽杨树的枯落物淋溶作用与植株自毒效应的相互关系与内在机理需要进一步澄清和研究。

本研究的结果证实杨树人工林根际土壤浸提液在低质量浓度时,可能对种子萌发和植株生长具有促进作用,而在高质量浓度时,对两者只有抑制作用,并且浓度越大、抑制性越强。这与普遍报道的化感物质对植株生长具有“低浓度促进、高浓度抑制”的浓度效应的结果相一致[29-31]。“浓度效应”的产生应与化感作用的浓度依赖性有关,也证实了化感物质在田间条件下需要积累到致毒浓度才有可能对植株产生抑制性。需要指出的是,本研究的结果显示出植物在连栽环境中,其根际物质的浓度效应与植物的连栽年限相关:连栽时间最长的Ⅲ代林在根际土壤低质量浓度时对植物生长具有促进作用,而栽种时间最短的Ⅰ代林在低浓度时并不显示对种子萌发的促进作用(图 2)。亦即连栽时间越长其浓度依赖性越显著。这个结果在以往的报道中尚不多见,该现象进一步提示连栽之后的植物在根部积聚的物质很可能正是具有浓度效应的化感/自毒物质,尤其在连栽后期土壤中自毒物质的积累已经较为充分,其“低促高抑”的特征也比前两代林显著,成为引发连栽障碍的重要因素。

本文结果表明随着连栽年限增加,植株的自毒效应显著增大而生长质量降低,这与一些学者采用土培实验对连作植物进行自毒作用研究的结果相一致[32-33]。有研究报道显示植物连栽障碍与土壤有效养分的降低有关[34],在人工林抚育实践中也采用增肥措施来解决连栽障碍,因为长期连栽常常伴随土壤养分结构的恶化。在本研究中,连栽林代出现不同程度的养分恶化:尽管抚育措施相同,但土壤中速效氮的含量出现逐代下降、Ⅲ代林土壤的速效磷含量也显著低于前两代林(表 2)。然而,本研究所采用表明添加营养液的方式没有缓解连栽土壤浸提液对植株生长的抑制作用,甚至抑制作用相较于无营养液组更显著(图 3)。这至少表明对于长期集约连栽的杨树,仅用施用营养液来改善连栽障碍的依据是不充分的。添加营养液不能改变抑制作用的原因可能是自毒物质本身会限制植物吸收养分的有效性或恶化土壤养分结构[35],自毒物质积累越多,对植株吸收养分的限制越强。但由于施肥存在多样化的措施,增施氮肥、绿肥等是否能够有效遏制连栽杨树自毒作用则有赖于下一步在土培实验中进行验证。基于本研究已有的结果,本文支持近期以来从化感作用的角度阐释连栽障碍的发生机制,并推断长期连栽使得自毒物质积聚在植物根部(或其它重要器官),抑制植物生长发育与种内更新,引发连栽障碍。

4　结论

(1)连栽杨树人工林土壤对植物的抑制性自毒作用主要发生在杨树根际部分,根系分泌的方式是杨树人工林主要的自毒作用途径。

(2)杨树人工林根际土壤的自毒作用具有浓度效应:随着自毒物质的浓度增大,对植株的生长抑制性增强。但在低浓度时有时会促进植株的生长。

(3)根际土壤对杨树生长的抑制作用随着连栽林代的增加而显著,而采用增施营养的措施不一定缓解连栽时间过长对植株生长的抑制性。

(4)长期连栽杨树土壤产生显著的自毒效应,建议人工杨树林连栽 30 年后应改变土地利用方式。

参考文献(References):

[1] Rice E L. Allelopathy. 2nd ed. New York: Academic Press, 1984: 1-3

[2] Singh H P, Batish D R, Kohli R K. Autotoxicity: Concept, organisms, and ecological significance. Critical Reviews in Plant Sciences, 1999, 18(6): 757-772.

[3] Willis R J. Approaching the modern era//Willis R J. The History of Allelopathy. Netherlands: Springer, 2007: 251-300.

[4] Fitter A. Making allelopathy respectable. Science, 2003, 301(5638): 1337-1338.

[5] 吴秋芳, 王景顺, 路志芳. 杨树人工林退化及恢复的研究进展. 中国农学通报, 2015, 31(31): 1-6.

[6] 孔令刚, 刘福德, 王华田, 姜岳忠, 董玉峰, 焦绪娟. 施肥对 I-107 杨树人工林土壤根际效应的影响. 中国水土保持科学, 2006, 4(5): 60-65.

[7] 郭修武, 李坤, 郭印山, 李成祥, 谢洪刚, 胡禧熙, 张立恒, 孙英妮. 不同种植年限葡萄园根区土壤养分变化及对再植葡萄生长的影响. 中国生态农业学报, 2010, 18(3): 477-481.

[8] 李兆慧. 天山云杉自毒作用与自毒物质的鉴定[D]. 杭州: 浙江大学, 2011: 1-108.

[9] 陈龙池. 杉木人工林土壤中毒性化感物质的鉴定与来源[D]. 沈阳: 中国科学院沈阳应用生态研究所, 2009.

[10] 陈莉莎, 张金池, 陆茜, 卓为君, 李梅花, 李世昌. 杨树根际土壤水浸提液对 3 种农作物的化感效应. 浙江农林大学学报, 2015, 32(2): 264-271.

[11] 赵勇, 陈桢, 王科举, 王谦, 樊巍. 泡桐、杨树叶水浸液对作物种子萌发的化感作用. 农业工程学报, 2010, 26(13): 400-405.

[12] 贺维, 陈刚, 陈洪, 胡庭兴, 王彬, 胡义, 杜朝云. 美洲黑杨凋落叶分解初期对小白菜生长的影响. 生态学报, 2015, 35(7): 2067-2075.

[13] 杨阳, 王华田, 王延平, 姜岳忠, 王宗芹. 外源酚酸对杨树幼苗根系生理和形态发育的影响. 林业科学, 2010, 46(11): 73-80.

[14] 李冠喜, 吴小芹, 叶建仁. 杨树根际土自毒物质的积累、毒害及生物修复. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2013, 37(3): 71-76.

[15] 王延平. 连作杨树人工林地力衰退研究: 酚酸的累积及其化感效应[D]. 泰安: 山东农业大学, 2010: 1-164.

[16] 孔令刚, 王华田, 姜岳忠, 谭秀梅, 焦绪娟. 杨树不同品种更替连作对林地土壤生化特性的影响. 水土保持学报, 2006, 20(5): 69-72.

[17] 王延平, 王华田, 谭秀梅, 姜岳忠, 孔令刚. 杨树人工林品种更替连作与非更替连作根际效应的比较. 生态学报, 2010, 30(5): 1379-1389.

[18] 张新慧, 郎多勇, 张恩和. 当归根际土壤水浸液的自毒作用研究及化感物质的鉴定. 中草药, 2010, 41(12): 2063-2066.

[19] 沙红, 高燕, 李雪源. 棉花植株水提取液对种子萌发和幼苗生长的自毒作用. 新疆农业科学, 2012, 49(5): 826-830.

[20] 张文明, 邱慧珍, 张春红, 刘星, 高怡安, 沈其荣. 连作马铃薯不同生育期根系分泌物的成分检测及其自毒效应. 中国生态农业学报, 2015, 23(2): 215-224.

[21] 汪思龙, 陈龙池, 廖利平, 黄志群. 几种化感物质对杉木幼苗生长的影响. 应用与环境生物学报, 2002, 8(6): 588-591.

[22] 林思祖, 黄世国, 曹光球, 黄志群. 杉木自毒作用的研究. 应用生态学报, 1999, 10(6): 661-664.

[23] 何玮, 郭琳微, 樊鹏辉, 郭斌, 傅艳萍, 尉亚辉. 黄花棘豆在腐解过程中的化感作用及其土壤细菌群落结构分析. 草业学报, 2015, 24(7): 21-29.

[24] 万开元, 陈防, 陶勇, 陈树森, 罗治建. 杨树对莴苣的化感作用. 东北林业大学学报, 2009, 37(1): 21-22.

[25] 耿广东, 张素勤, 程智慧. 不同作物根系分泌物对莴苣化感作用的研究. 北方园艺, 2009, (6): 24-26.

[26] 鲍士旦. 土壤农业化学分析(第三版). 北京: 中国农业出版社, 2000: 231-245.

[27] 李勇, 黄小芳, 丁万隆. 根系分泌物及其对植物根际土壤微生态环境的影响. 华北农学报, 2008, 23(Z1): 182-186.

[28] 吴林坤, 林向民, 林文雄. 根系分泌物介导下植物—土壤—微生物互作关系研究进展与展望. 植物生态学报, 2014, 38(3): 298-310.

[29] 耿广东, 程智慧, 张素勤. 不同浓度的辣椒化感物质对莴苣化感效应研究. 华北农学报, 2008, 23(2): 30-33.

[30] 王丹丹, 杨建设, 燕志强, 孙玉合, 崔海燕, 丁兰, 秦波. 绿原酸对莴苣生长的化感作用及其机理研究. 西北植物学报, 2014, 34(5): 957-962.

[31] 黄玉茜, 韩立思, 杨劲峰, 王月, 韩晓日. 花生植株和土壤水浸液自毒作用研究及土壤中自毒物质检测. 生态学报, 2012, 32(19): 6023-6032.

[32] 徐雪风, 回振龙, 李自龙, 张俊莲, 李朝周. 马铃薯连作障碍与土壤环境因子变化相关研究. 干旱地区农业研究, 2015, 33(4): 16-23.

[33] 李坤. 葡萄连作障碍机理及调控途径的研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2010: 1-149.

[34] 邓阳春, 黄建国. 长期连作对烤烟产量和土壤养分的影响. 植物营养与肥料学报, 2010, 16(4): 840-845.

[35] 张恩平, 衣宁宁, 李亮亮, 李天来, 刘勇. 番茄自毒物质对土壤养分的影响. 西南农业学报, 2010, 23(3): 820-823.